

## 公開特許公報

昭53—82792

⑤Int. Cl.<sup>1</sup>  
 C 07 D 487/04 //  
 A 61 K 31/395  
 C 12 D 9/14  
 (C 07 D 487/04  
 C 07 D 243/00  
 C 07 D 209/00 )

識別記号

⑥日本分類  
 16 E 61  
 30 G 133  
 30 H 52  
 36(2) D 531

内整理番号  
 6736—44  
 7432—44  
 5727—44  
 7110—49

⑦公開 昭和53年(1978)7月21日  
 発明の数 3  
 審査請求 未請求

(全24頁)

⑧新制癌抗生物質マゼスラマイシン及びその製造方法

⑨発明者 浜田雅

保谷市富士町1丁目7番3号—4

⑩特願 昭51—157479

同

国元節子

⑪出願 昭51(1976)12月28日

川崎市高津区宮崎2丁目6番11号

⑫発明者 梅沢浜夫

⑬出願人 財団法人微生物化学研究会

東京都練馬区豊玉北4丁目23番地

東京都品川区上大崎3丁目14番23号

竹内富雄

⑭代理人 弁理士 朝内忠夫 外3名

東京都品川区東五反田5丁目1番11号

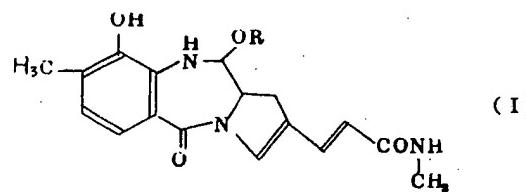
## 明細書

## 1. 発明の名称

新制癌抗生物質マゼスラマイシン及びその製造方法

## 2. 特許請求の範囲

## 1. 次の一般式(I)



(式中Rは水素原子または低級アルキル基、特にメチル基またはエチル基を示す)で表わされる化合物またはこれのアンヒドロ体である制癌抗生物質マゼスラマイシン化合物。

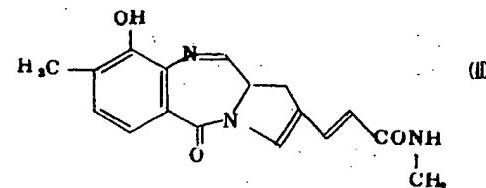
2. 一般式(I)の化合物においてRが水素原子で表わされるマゼスラマイシンAである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

3. 一般式(I)の化合物においてRがメチル基で

表わされるマゼスラマイシンBである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

4. 一般式(I)の化合物においてRがエチル基で表わされるマゼスランマイシンCである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

5. 一般式(I)の化合物のアンヒドロ体であつて次式(II)



で表わされるアンヒドロアセスママイシンである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

6. ストレプトミセス属に属するマゼスラマイシン化合物生産菌を、栄養源を含有する培地中に好気的に培養して、その培養物中にマゼスラマイシン化合物を生産せしめ、培養物からマゼスランマイシン化合物を採取することを特徴とする、抗

する特許請求の範囲第6項又は第7項記載の方法。

12. アンヒドロマゼスマライシンを採取し、含水溶媒に溶解して、マゼスマライシンAを採取する特許請求の範囲第6項記載の方法。

13. アンヒドロマゼスマライシンを採取し、エタノールを含有する溶液に溶解して、マゼスマライシンCを採取する特許請求の範囲第6項記載の方法。

14. マゼスマライシンAまたはアンヒドロマゼスマライシンをメタノールまたはエタノールと反応させることから成るマゼスマライシンBまたはCの製造法。

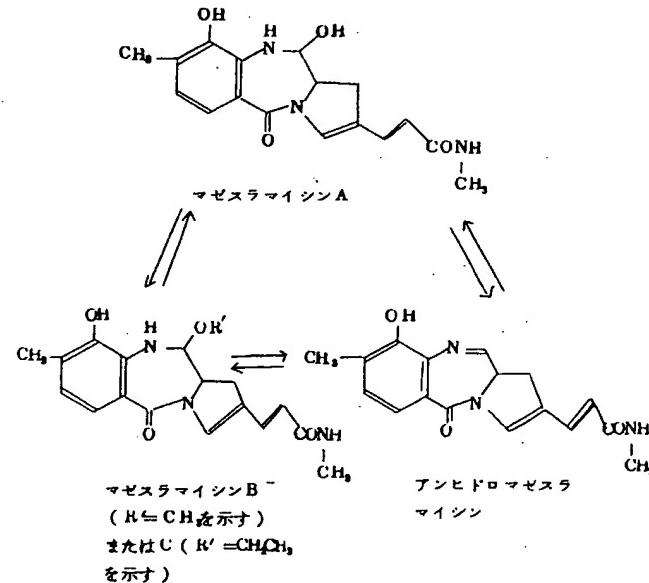
### 3. 発明の詳細な説明

本発明はストレプトミセス属に属する微生物を培養してその培養物から採取して得られる新規な制癌生物質マゼスマライシン(Mazethramycin)A, B, Cおよびアンヒドロマゼスマライシン(以下では、これら新規化合物を総称してマゼスマライシン化合物若しくは単にマゼスマライシンと言う)に関するものである。また、これらのマゼスマライシ

### ン化合物の製造方法に関するものである。

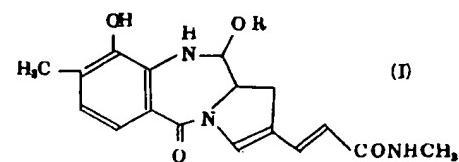
本発明者らによれば、昭和44年10月、東京都新島の土壤より分離された放線菌で、ストレプトミセス・テオルテウスと同定されたME561-1-2株を培養してマゼスマライシンを蓄積せしめ、その培養物からマゼスマライシンを採取することによって、新規な制癌生物質マゼスマライシンA, B, Cおよび又はアンヒドロマゼスマライシンを製造し得ることを知見した。

本発明に述べるマゼスマライシンA, B, Cおよびアンヒドロマゼスマライシンは下記の化学構造式をもつ化合物であると認められ、また適宜な溶媒による溶液中で、次の反応式の如く相互に容易に変換する化合物である。

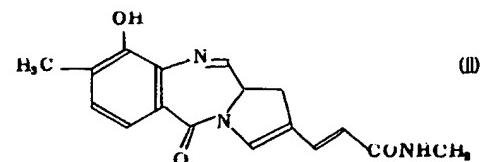


すなわち、マゼスマライシンAは非極性溶媒中で還流して脱水するとアンヒドロマゼスマライシンとなる。また、アンヒドロマゼスマライシンは

すなわち、第一の本発明の要旨とするところは、次の一般式(I)



(式中Rは水素原子、メチル基、またはエチル基である)、で表わされる化合物、またはこれのアンヒドロ体、すなわち次式(II)



の化合物であるマゼスマライシン化合物にある。

本発明に係る新制癌生物質マゼスマライシンの性状は次に示すとおりである。

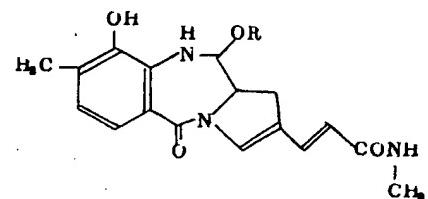
(I) マゼスマライシンAは淡黄色粉末、融点181～193℃(分解)、 $[\alpha]_D^{25} +730^\circ$ (c0.062, ジメチルホルムアミド)。紫外部吸収スペクトル曲線は第1図に示す通りである。 $\lambda_{max}^{CH_3CN}$  m $\mu$ (d) : 320(肩34600), 335, 39,400)である。臭化カリウムで測定した赤外部吸収スペクトル曲線は第2図に示すとおりである。元素分析は実験値: C 6.2.3.5%, H 5.7.2%, N 2.8.2%, O 18.9.9%, 理論値(C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) : C 6.1.9.9%, H 5.8.2%, N 2.7.6%, O 19.4.3%であつた。高分解能マススペクトルで分子ピークは認められず、脱水ピークが認められた。重ジメチルスルホキサイド溶液で測定した核磁気共鳴スペクトルは次に述べるマゼスマライシンBのそれと比べ、-OCH<sub>3</sub>のシグナル(δ3.44 ppm)の消失、δ5.09 ppm(シングレット)とδ4.83 ppm(ダブルレット)に新たにシグナル(1H)が観察された。これは、マゼスマライシンBにおける-OCH<sub>3</sub>基が-OH基に変換し、エビマーの存在(約50%)を示した。

(II) マゼスマライシンBは黄色針状晶で明確な融点を示さず245～270°付近で分解する。比旋光度は $[\alpha]_D^{25} = +900^\circ$ (c 0.2, ジメチルホルムアミド)の値を得た。元素分析は実験値: C 6.3.3.8%, H 6.1.8%, N 2.4.0% O 18.19%, 理論値(C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) : C 6.2.9.6%, H 6.1.6%, N 2.2.4%, O 18.64%である。メタノール、エタノール、ブタノール、アセトン、酢酸エチル、アセトニトリル、クロロホルムには溶解するが、酢酸ブチル、ベンゼン、エーテルには難溶である。呈色反応は、フアストブルーB反応でレンガ色に呈色する。エールリツビ、坂口、ライドンースミス反応は陰性である。シリカゲルの薄層上で、約10時間放置することにより褐色を呈してくる。シリカゲルの薄層クロマトグラフィーで、クロロホルム-メタノール(10:1)の展開系ではRfは0.21である。紫外部吸収スペクトル曲線(5μg/ml)は第3図に示すとおりで、アルカリ溶液中では長波長側へのシフトが認められる。極大吸収は、1%メタノール溶液中で215 m $\mu$ (ε 25,600)

235 m $\mu$  ( $\epsilon$  22,200) および 334 m $\mu$  ( $\epsilon$  46,100) である。0.1N水酸化ナトリウム含有1%メタノール溶液中では、258 m $\mu$  (肩/7,200) および 351 m $\mu$  ( $\epsilon$  43,400) である。

臭化カリ鉱で測定した赤外部吸収スペクトル曲線は第4図に示すとおり、3350, 3120, 2950, 1660, 1630, 1610, 1565, 1515, 1465, 1410, 1370, 1345, 1315, 1250, 1220, 1170, 1145, 1070, 1025, 990, 955, 940, 910, 880, 855; 820, 760 cm $^{-1}$ に主な吸収帯を有する。重ジメチルスルホキシサイド溶液で測定した核磁気共鳴スペクトルは第5図に示すとおりである。マゼスマライシンBはその紫外部吸収スペクトル、赤外部吸収スペクトルおよび核磁気共鳴スペクトルからアンスマライシン(ジャーナル・オブ・アメリカン・ケミカル・ソサエティ 87巻 5791頁～5795頁 1965年)ときわめて類似の化合物である。核磁気共鳴スペクトルにおける2重共鳴法よりアン

スラマイシン・メチルエーテルの側鎖であるアクリルアミド部分がN-メチル( $\delta$  2.05 ppm)化された化合物であることが推定される。さらにアンスマライシン・メチルエーテルのマススペクトルに特徴的に見られる脱メタノールピークはマゼスマライシンBの高分解能マススペクトルに認められ、さらにマゼスマライシンBの酸加水分解(1規定塩酸、加熱還流2時間)物中にガスクロマトグラフィーによりメチルアミンが検出されることから、マゼスマライシンA,BおよびCはそれぞれ下記の構造を有する新規な化合物であることを確認した。



マゼスマライシンA : R = H

マゼスマライシンB : R = CH<sub>3</sub>

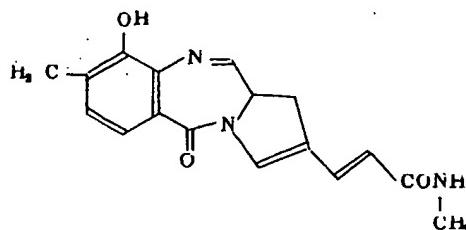
マゼスマライシンC : R = -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>

(ii) マゼスマライシンCは淡黄色結晶性粉末で融点216～223℃(分解),  $[\alpha]_D^{21} +450$  (c 0.067ジメチルホルムアミド)。紫外部吸収スペクトル曲線は第6図に示す通りである。

$\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_3\text{CN m}\mu(\epsilon)}$  : 217 (25,700), 235 (肩/9.300), 333 (43,600) である。臭化カリ鉱で測定した赤外部吸収スペクトル曲線は第7図に示すとおりである。元素分析は、実験値 C 63.25%, H 6.33%, N 2.25%, O 15.83%, 理論値 (C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) : C 63.85%, H 6.48%, N 1.76%, O 17.91%であつた。重ジメチルスルホキサイド溶液で測定した核磁気共鳴スペクトルは、マゼスマライシンBのそれと比べ、エチル基のシグナル(-OCH<sub>2</sub>-; δ 3.1～3.6 ppm : -CH<sub>2</sub>, δ 1.15 ppm)観察された。

(iv) アンヒドロマゼスマライシンは、淡黄色結晶で、融点252～262℃(分解),  $[\alpha]_D^{25} +$

1940°(c 0.05, ジメチルホルムアミド)。紫外部吸収スペクトル曲線は第8図に示す通りである。 $\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_3\text{CN m}\mu(\epsilon)}$  : 229 (16,100), 235 (肩/5.800), 298 (肩/9.300) 315 (21.800), 352 (21,100) である。臭化カリ鉱で測定した赤外部吸収曲線は第9図に示すとおりである。元素分析は実験値: C 65.04%, H 6.10%, N 3.04%, O 16.38%, 理論値 (C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) : C 65.58%, H 5.50%, N 3.50%, O 15.42%であつた。高分解能マススペクトルで分子ピーク(実験値 311, 125, 計算値 311, 124)が観察された。重ジメチルスルホキサイド溶液で測定した核磁気共鳴スペクトルはマゼスマライシンBのそれと比べ、-OCH<sub>3</sub>のシグナル( $\delta$  3.44 ppm)が消失し、アゾメチンのシグナル( $\delta$  8.15 ppm)が観察された。アンヒドロマゼスマライシンは下記の構造を有するマゼスマライシンAの脱水体であることを確認した。



なお、アンヒドロマゼスマライシンをメタノール、エタノール、プロピルアルコール、ブタノール等の低級アルカノール中に溶解すると、紫外部吸収スペクトルの変化より、アルコール付加物となつていることが確認された。しかし、メタノール、エタノール付加物であるマゼスマライシンBおよびC以外のアルコール付加物は不安定で、減圧下に加熱乾燥（約50℃）するとアンヒドロマゼスマライシンにもどることが認められた。

マゼスマライシンA、B、Cならびにアンヒドロマゼスマライシンの各々の栄養寒天上での最低阻止濃度は第1表に示すとおりである。

第1表

	最低阻止濃度 (mcg/ml)
スタビロコッカス・アラレウス 209P	3.12
スタビロコッカス・アウレウス・スニス	1.56
ミクロコッカス・ラバス FDA 6	3.12
ミクロコッカス・リソティケテイクス IF03333	3.12
サルチナ・ルテア PC1/001	3.12
ペチュス・アンヌラシス	6.25
ペチュス・ズブチルス NRRL B-558	3.12
ペチュス・ズブチルス PC12/9	1.56
ペチュス・セレウス ATCC 0702	6.25
コリネベクトリウム・ボビス 810	3.12
エジエリヒア・コリ NIH	6.25
エジエリヒア・コリ K-12	5.0
シグラ・ジセンテリエ JS/1910	3.12
シグラ・フレキシネリ 46JS/1811	5.0
シグラ・ソナイ JS/1746	1.00
サルモネラ・チフタイ T-63	5.0
サルモネラ・エンテリテリス 1891	6.25
プロテウス・ブルガリス OX/9	5.0
プロテウス・レトグリ GN466	5.0
ショードモナス・エルギノーザ A3	>5.0
クレブシラ・ニュモニエ PC1602	3.12
カンジダ・シユードロビカリス F-2	6.25
カンジダ・アルビカンス 3/47	>2.5
カンジダ・クルセイ F-5	>5.0
サツカロミセス・セレビシエ F-7	>2.5
タリブコッカス・ネオホルマンス F-10	>1.25
ヘルミンスボリカム・オリゼ	>1.25
ピリクタリア・オリゼ	6.25
キサントモナス・シリ	>2.5
キサントモナス・オリゼ	7.1.56
アスペルギルス・ニガー F-16	>5.0
トリコファイイン・アステロイデス 429	>1.25

マゼスママイシン A, B および C のマウスの白血病に対する治療効果をみるとため、マウスの腹腔 IC<sub>10</sub><sup>5</sup> 個/マウスの率で L-1210 細胞を移植後、マゼスママイシン A, B, C の各々を腹腔内注射で連続 10 日間投与すると第 2 表に示す様な延命効果を示した。

第 2 表

投与量 (mcg/マウス/日)	延命率(%)
1.25	205
0.63	240
0.31	164
0.16	164
0.08	123

但し延命率は次式によつて計算した。

$$\text{延命率}(\%) = \frac{(\text{処理マイスの生存日数})}{(\text{未処理マイスの生存日数})}$$

マゼスママイシン A, B, C ならびにアンヒドロマゼスママイシンの各々の急性毒性は 10% メタノール水溶液をマウスの腹腔内に投与して LD<sub>50</sub>。

0.8 mg/mae である。

なお、本発明におけるマゼスママイシン A, B, C およびアンヒドロマゼスママイシンの間では、これらの生物学的性質はそれぞれ本質的差異を示さない。

第二の本発明の要旨とするところは、ストレプトミセス属に属するマゼスママイシン化合物生産菌を、栄養源を含有する培地中で好気的に培養して、その培養物中にマゼスママイシン化合物を採取することを特徴とする、抗生物質マゼスママイシン化合物の製造法にある。

第二の本発明で使用されるマゼスママイシン化合物生産菌の一例としては、ストレプトミセス・チオルテウス ME 561-84 株がある。ME 561-84 株の菌学的性状は次に示すとおりである。

#### 1. 形態

ME 561-84 株は顕微鏡下で、分枝した基中菌糸より輪生枝をもつた気菌糸を伸長し、螺旋形成はみとめられない。成熟した胞子頭は 10 個

以上の胞子の連鎖をみとめ、胞子の大きさは 1.0 ~ 1.2 × 0.4 ~ 0.5 ミクロン位で、胞子の表面は平滑である。

#### 2. 各種培地における生育状態

色の記載について[]内に示す標準は、コンティナー・コードレーション・オブ・アメリカのカラー・ハーモニー・マニュアルを用いた。

##### (1) シュクロース・硝酸塩寒天培地 (27℃ 培養)

無色の発育上に、白色の気菌糸を着生し、溶解性色素はみとめられない。

##### (2) グルコース・アスパラギン寒天培地 (27℃ 培養)

無色~うす黄~にぶ黄 [1/2 Me, Antique Gold] の発育上に、白~黄味灰 [1 cb, parchment ~ 2cb, Ivory Tint] の気菌糸を着生し、溶解性色素はわずかに黄色味をおびる。

##### (3) グリセリン・アスパラギン寒天培地 (ISP-培地 5, 27℃ 培養)

うす黄~うす黄茶 [3 ng, Yellow Maple] ~ 黄茶 [3 pi, Golden Brown ~ 4pi Oak Brown] の

発育上に、白~黄味灰 [1 ba, Yellow Tint ~ 2ba, Pearl] の気菌糸を着生し、溶解性色素は茶色味を呈する。

##### (4) スターチ・無機塩寒天培地 (ISP-培地 4, 27℃ 培養)

無色~うす黄茶 [3 ng, Yellow Maple] の発育上に、白~黄味灰 [2 cb, Ivory Tint] の気菌糸を着生し、溶解性色素は培養後 1~3 日目位からわずかに黄色味をおびる。

##### (5) チロシン寒天培地 (ISP-培地 7, 27℃ 培養)

うす黄茶~黄茶 [2 pi ~ 2 ni, Mustard Brown] ~ 暗い黄茶 [3 pi, Deep Brown] の発育上に、白~黄味灰 [1 ba, Yellow Tint ~ 2ba, Pearl] の気菌糸を着生し、溶解性色素は黄色味~茶色味を呈する。

##### (6) 栄養寒天培地 (27℃ 培養)

うす黄~うす黄茶 [3 ng, Yellow Maple] の発育上に、白色の気菌糸を着生し、溶解性色素は黄色味を呈する。

##### (7) イースト・麦芽寒天培地 (ISP-培地 2, 27℃

## (培養)

うす黄茶～黄茶〔*Jani, Clove Brown*〕の発育上に、白～黄味灰〔*1 cb, parchment ~ 2 cb, Ivory Tint*〕の気菌糸を着生し、溶解性色素は、わずかに茶色味をおびる。

## (4)オートミル寒天培地(1SP-培地3, 27℃培養)

うす黄～うす黄茶の発育上に、白～黄味灰〔*2cb, Ivory Tint*〕の気菌糸を着生し、溶解性色素は黄色味を呈する。

## (5)グリセリン・硝酸塩寒天培地(27℃培養)

無色～うす黄の発育上に、白～黄味灰の気菌糸をうつすらと着生し、溶解性色素はみとめられない。

## (6)スターチ寒天培地(27℃培養)

無色～うす黄茶〔*Jng, Yellow Maple*〕の発育上に、白～黄味灰〔*2cb, Ivory Tint*〕の気菌糸を着生し、溶解性色素は培養後15日目位からわずかに黄色味をおびる。

## (7)リンゴ酸石灰寒天培地(27℃培養)

無色の発育上に、白～黄味灰〔*1 ba, Yellow*

Tint ~ 2 ba, pearl〕の気菌糸を着生し、溶解性色素はみとめられない。

## (8)単純ゼラチン穿刺培養(20℃培養)

発育はうす黄～うす黄茶。気菌糸は培養後14日頃から着生し、黄味灰を呈する。溶解性色素は培養後14日頃からわずかに黄色味をおびる。

## (9)グルコース・ペプトン・ゼラチン穿刺培養(27℃培養)

にぶ黄～うす黄茶の発育上に、黄味灰の気菌糸をうつすらと着生し、溶解性色素は黄色味をおびる。

## (10)脱脂牛乳(27℃培養)

うす黄～にぶ黄の発育上に、白～黄味灰の気菌糸を着生し、溶解性色素は黄色味を呈する。

## (11)セルロース(27℃培養)

発育は無色。気菌糸は着生せず、溶解性色素もみとめられない。

## 3.生理的性質

## (1)生育温度範囲

スターチ・イースト寒天(可溶性糖粉10%)

酵母エキス0.2%、経寒天3.0%、pH2.0)を用いて、20℃、24℃、27℃、30℃、37℃、50℃の各温度で試験の結果、50℃を除いて、そのいずれの温度でも生育するが、最適温度は27℃～30℃付近と思われる。

## (2)ゼラチンの液化(1.5%単純ゼラチン、20℃培養；グルコース・ペプトン・ゼラチン、27℃培養)

単純ゼラチンの場合は、培養後5日目頃から液化がみられるが、その作用は中等度～弱い方である。グルコース・ペプトン・ゼラチン培地では、培養後3週間を経過しても液化がみとめられなかつた。

## (3)スターチの加水分解(スターチ・無機塩寒天及びスターチ寒天、何れも27℃培養)

培養後10～14日目頃から水解性がみとめられが、その信用は極めて弱い方である。

## (4)脱脂牛乳の凝固・ペプトン化(脱脂牛乳、37℃培養)培養後3日目に凝固が完了し、後ペプトン化が始まり、培養後10日目にペプトン化がほ

ぼ完了する。凝固、ペプトン化とともにその作用は強い方である。

## (5)メラニン様色素の生成(トリプトン・イースト・プロス、1SP-培地1；ペプトン・イースト・鉄寒天及びチロシン寒天、ISP-培地6；チロシン寒天、ISP-培地7、何れも27℃培養)

トリプトン・イースト・プロスではメラニン様色素の生成はみとめられず、ペプトン・イースト・鉄寒天及びチロシン寒天の場合もわずかに褐色の溶解性色素を呈する程度で、おそらく陰性と思われる。

## (6)炭素源の利用性(ブリドハム・ゴトリープ寒天、Isp-培地9、27℃培養)

グルコースを利用して栄養し、イノシトールはおそらく利用していると判定され、L-アラビノース、D-キシロース、D-フラクトース、シュクロース、L-ラムノース、ラフィノース、D-マンニトールは利用しない。

## (7)リンゴ酸石灰の溶解(リンゴ酸石灰寒天、27℃培養)

第三表

	MES 6 / -24	ストレプトミセス ISP 5027 ルテウス ISP 5027	文献記載
輪生枝の形成	+	種々の培地上で 気菌糸の形成なく不明	+ (1) 平滑 (2) あるいは白~黄色 (1)
孢子の表面	平滑		平滑 (1)
気菌糸	糞糸状		
発育の色	う黄~オカナガヌ青紫~黃紫 一黄色~茶色味		
溶解性色素		クチナシ~ナガヌ青紫~黃紫 一黄色味~茶色味	
メラニン様色素の生成			
ISP-1 培地	-		- (3)
ISP-6 #	+		- (3)
ISP-7 #	+		- (3)
ステークの加水分解			- (1)
牛乳の凝固	+ はやい		+ はやい (1)
のペントン化	+ 強い		+ 強い (1)
セラチンの液化			
半胱ゼラチン	+ 中等度~弱い		+ おそい (1)
クコニス~ペントンセラチン	-		- (1)
硝酸塩の還元反応	-		- (3)
炭素源の利用性			
L-アラビノース	-		-
D-キシロース	-		-
D-グルコース	+	-	-
D-フuctose	-	-	-
シュクロース	-	-	-
イノシトール	-	-	(+)
L-タムノース	-	-	-
ラフィノース	-	-	-
マンニトール	-	-	-
生産する抗生素質		オーレオスライシン	オーレオスライシン (1)

注(1)： + はおぞらく + はおそらく - を意味する。

注(2)： 文獻記載は / ) S.A.Waksman 著の The Actinomycetes, 2巻, 279  
頁, 1941; 2) Electromicrograms of Actinomycetes No/  
16 by The Society for Actinomycetes, Japan, 1965, 3)  
International Journal of Systematic Bacteriology, 22卷,  
No.2, 1972.

特開昭53-82792(8)  
る。次に実際にストレプトミセス・チオルテウス  
ISP 5027 株を入手し、MES 6 / -84 株  
と比較検討した成績の大要を示すと次の第3表の  
如くである。

リンゴ酸石灰の溶解はみとめられない。  
(a)硝酸塩の還元反応 (1%硝酸ソーダ含有ペプ  
トン水、ISP-培地 8, 27℃培養)  
陰性である。

以上の性状を要求すると MES 6 / -84 株は  
ストレプトミセス属に属し、菌糸は輪生枝を有し、  
螺旋形成はみとめられず、胞子の表面は平滑であ  
る。種々の培地で発育はうす黄~うす黄茶~黄茶、  
気菌糸はおおむね黄味灰を呈し、溶解性色素は無  
色~黄色味~茶色味をおびる。メラニン様色素は  
陰性、蛋白分解は中等度~強い方、スタークの水  
解性は極めて弱い方である。

これらの性状及びこの菌株がオーレオスライシ  
ンを生産する点より既知菌種を検索すると、ME  
561-84 株に最も近縁の種としてストレプトミセ  
ス、チオルテウス

( Streptomyces thioluteus 文獻 / International  
Journal of Systematic Bacteriology 22巻, 362  
頁, 1972; 文獻 2 The Japanese Medical  
Journal 1巻, 512頁, 1948) があげられ

上記のごとくストレプトミセス・チオルテウス ISP 5027 株は気菌糸を産生せず、その形態的性状は不明であつたが、文献によれば輪生枝を有する白あるいは黄味白の気菌糸を形成するところあり、ME 561-84 株と同様である。

一方 ME 561-84 株はストレプトミセス・チオルテウス ISP 5027 株と比較し、グルコース・ペプトン、ゼラチン、硝酸塩の還元反応で異なるが、その他の点では大変良く一致している。

よつて、ME 561-84 株をストレプトミセス・チオルテウス (*streptomyces thioluteus*) ME 561-84 と同定した。

なお、この ME 561-84 株は工業技術院微生物工業技術研究所に昭和 51 年 11 月 27 日にストレプトミセス ME 561-84 の名称で保管委託申請し、申請書受理番号は第 3825 号である。

放線菌は人工的に、又自然界で変異をおこしやすいが、本発明にいうストレプトミセス・チオルテウス ME 561-84 はそれらの変異菌のすべ

てを包括する。本発明にいうこれらの菌種はマゼスマライシン化合物を生産し、不育種およびその変異菌と明確に区別されない菌はすべてこれを包含する。

第二の本発明の方法を実施するに当つては、マゼスマライシン生産菌株の胞子または菌糸を栄養源含有培地に接種して、好気的に発育させることによつて、マゼスマライシン化合物、特にマゼスマライシン A を含む培養液が得られる。栄養源としては放線菌の栄養源として用いられる公知のものはすべて使用できる。例えばグルコース、マルトース、デキストリン、澱粉、ラクトース、サツカロース、ガラクトース、グリセリン、大豆油等を炭素源として利用できる。その一例を表 1 に示す。ペプトン 0.75%、肉エキス 0.75%、NaCl 0.3%、CaCO<sub>3</sub> 0.32%、MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.1%、CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 0.00056%、FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.00008%、MnC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>4</sub> 0.00064%、ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.00016% を含む培地を基礎培地として、上記の炭素源を下記の濃度に添加した培地 1 L を 500 mL 容の坂

ロフラスコに分注して、120℃で 20 分間、加圧滅菌して冷却し、これに、放線菌 ME 561-84 株の培養から胞子および菌糸を接種し、27℃で好気的に振盪培養した時、培養 3 日目または 4 日目のマゼスマライシン化合物の生産量は第 4 表に示す通りである。

第 4 表

炭素源の種類と濃度	培養日数	生産量
グリセリン 2.5%	3 日	150 mg/ml
グルコース 2%	3	93
ガラクトース 2%	3	3
ラクトース 2.5%	3	7
デキストリン 2%	3	13
マルトース 2%	3	9
サツカロース 4%	4	5
グルコース 1%		
澱粉 1%	3	46
大豆油 2%		
澱粉 0.5%	3	28
グルコース 0.5%		

上記の様に、いずれの炭素源もこれらの化合物の生産に利用できるが、特にグリセリン、グルコースが好適な炭素源である。

窒素源としてはマゼスマライシン化合物の生産のために、放線菌の栄養源として用いられる公知の窒素源はすべて利用できる。例えばペプトン、肉エキス、酵母エキス、大豆粉、大豆粕、コーンステイーブリカ、納豆粉、魚粉、カゼミノ酸、N-Z-アミン等が利用できるが、その一例を第 5 表に示す。上記の様にグルコース 1%、澱粉 1%、NaCl 0.3%、CaCO<sub>3</sub> 0.32%、MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.1%、CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 0.00056%、FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.00008%、MnC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>4</sub> 0.00064%、ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.00016% を含む培地を基礎培地として、下記の濃度になる様に窒素源を添加して滅菌し、これに前記の液体培地に発育せしめた胞子または菌糸を接種して 3 日間または 4 日間振盪培養した時のマゼスマライシン化合物の生産量は第 5 表に示す通りである。

第五表

培養液の種類と濃度	培養日数	生産量
肉エキス 0.75%	3	150g/ml
ペプトン 0.75%		
酵母エキス 0.2%	3	28
大豆粉 2.5%		
酵母エキス 0.5%	4	31
大豆粕 2.0%		
大豆粉 1.5%	3	25
(ブロリツチ)		
コーンステイーブリカ-2.0%	3	56
細胞粉 1.5%	3	14
L-アスパラギン 0.2%		
魚粉 2.0%	3	46
酵母エキス 0.5%	3	38
カザミノ酸 0.5%		
酵母エキス 0.3%	3	5
N-Z-アミン 1.0%		
大豆粉(ブロリツチ) 2%	4	75
ペプトン 0.2%		

特開昭53-82792(10)

上記の様に、いずれの窒素源も利用できるが、特に、肉エキス、ペプトンが好適な窒素源である。マゼストラマイシン化合物を生産せしめるために必要とするならば無機塩、金属塩、重金属塩の微量を加える。又培養中に消泡を必要とする時はシリコン樹脂、大豆油、アデカノール等の消泡剤を使用できる。

マゼストラマイシン化合物の大量生産には液体培養が好ましく、培養温度は生産菌が発育し、マゼストラマイシン化合物を生産する範囲で適用し得るが、殊に好ましいのは25~35℃である。培養は普通マゼストラマイシン化合物が充分蓄積されるまで継続される。例えばクリセリン1.5%、細胞粉1.5%、NaCl 0.3%、L-アスパラギン0.2%の培地をpH 7.0に調整し、これに放線菌ME 561-84株の斜面培養から胞子および菌糸を接種し、27℃で好気的に攪拌培養を行つたところ、培養3~4日目に目的の抗生物質の最高の蓄積が見られる。

マゼストラマイシン化合物の定量は試験菌として

パチルス・サブテリス PCI 219などを使用して、抗生物質の定量に用いられる通常の円筒平板法によつて行ない、本発明で得られた純粋なマゼストラマイシンBを標準物質に用いる。培養液中に他の抗生物質例えばテオルチニン、オーレオスリシンなどが同時に生産される時は、その培養液を酢酸エチルなどの溶媒に抽出し、残りの水層を上記の円筒平板法によつて測定することにより、マゼストラマイシン化合物を定量することができる。この場合、マゼストラマイシン化合物も酢酸エチルなどの溶媒に一部移行するので、マゼストラマイシンを对照として同じように操作し、標準曲線を作製し、これにより定量することができる。

マゼストラマイシン化合物の生産菌の培養液からこの抗生物質を抽出するには、ブタノールなどの水非混和性有機溶媒を使用する溶剤抽出法および活性炭などを吸着剤として使用する吸着法によつて行なわれる。マゼストラマイシンBのブタノール-水における分配係数は、pH 6~8の範囲で1.0以上を示す。従つて、このpH範囲で培養物

中よりマゼストラマイシン化合物を抽出することができる。また、培養液中のマゼストラマイシン化合物を抽出するに当り、吸着剤として、活性炭および非イオン交換性多孔質樹脂などを用いることは、有効である。特にジビニルベンゼンで架橋したポリスチレン樹脂、アンバーライト XAD-2(米国ロームアンド・ハース社製)を用いるカラムクロマトグラフィーを行うことは好ましく、XAD-2に吸着した抗生物質はメタノール水、アセトン水などで溶出され、減圧蒸留によつて濃縮される。菌体等固形分中のマゼストラマイシン化合物は通常もちいられる有機溶剤例えばメタノール、エタノール、アセトン、ブタノール等に抽出され、減圧蒸留によつて濃縮される。菌体を含む培養液から菌体を除くことなくマゼストラマイシン化合物がよく溶ける溶剤、例えばブタノールに液体部分および菌体部分のマゼストラマイシン化合物を抽出することもできる。上記の様にして得た抽出乾固物はエチルエーテル、ノルマルヘキサン等で処理すると、マゼストラマイシン化合物は不溶部に移行

する。さらにこの不溶部をメタノールで抽出すると溶媒層にマゼスマライシン化合物は抽出され、残渣は不純物として除かれる。マゼスマライシンはこれらの抽出法を適宜に組合せあるいは繰返すことによつて精製することができるが、更にセブアデツクスLH-20(ファルマシア社製)、セルロースおよびシリカゲルなどを用いる通常のカラムクロマトグラフィーによつて精製される。培養物中にしばしば共存する既知抗生物質チオルチンおよびオーレオスリシンは上述のエチルエーテル、ノルマルヘキサン等による処理またはシリカゲルのカラムクロマトグラフィーによつて容易にマゼスマライシン化合物と分離することができる。

上記した抽出精製処理は必要に応じて単独或いは任意に組み合わせることにより、マゼスマライシン化合物を精製することができる。マゼスマライシンA、B、Cを非極性溶媒中で加熱還流して脱水することにより、アンヒドロマゼスマライシンが得られる。ここで用いられる非極性溶媒としては、例えば、アセトン、アセトニトリル、酢酸

エチル、クロロホルム等である。アンヒドロマゼスマライシンを水または含水の非アルコール性溶媒に溶解すると、水が添加されてマゼスマライシンAが得られる。マゼスマライシンAまたはアンヒドロマゼスマライシンをメタノールに溶解するとメタノールが反応して比較的安定なマゼスマライシンBに変換することができる。同様に、マゼスマライシンAまたはアンヒドロマゼスマライシンをエタノールに溶解すると、エタノールが反応して比較的安定なマゼスマライシンCが得られる。

従つて、第三の本発明の要旨とするところは、マゼスマライシンAまたはアンヒドロマゼスマライシンをメタノールまたはエタノールと反応させることからなる。マゼスマライシンBまたはCの製造法にある。

マゼスマライシン生産菌の培養液からマゼスマライシンを採取するために、上記抽出精製法を有効に組み合せた一例をあげると次の通りである。培養液をpH7.5に調製し、ブタノールで、抗生物質を抽出し、水を加えて減圧下に40℃以下で

濃縮しブタノールを完全に除去し水溶液とする。これをpH7.5に調整しアンバーライトXAD-2の塔に吸着させ、充分水洗後50%アセトン水で挿出される。これを減圧下に40℃以下で濃縮乾固して粗粉末を得る。これを少量のメタノールに溶かし、メタノールに不溶の夾雑物は遠心分離または沪過により除きシリカゲルを加え、均一に混合した後乾燥したものを、シリカゲルを展開溶剤で膨潤してつめたカラムの頂部に置き、次にクロロホルム-メタノール(100:5容)で展開する。活性溶出部を濃縮後メタノールに溶解し、冷蔵庫に放置すると、黄色針状晶としてマゼスマライシンBを得ることができる。

夾雑物が多く結晶が析出しにくい時はシリカゲルの再クロマトグラフィーを展開溶剤に酢酸エチルを用いて行い、活性溶出部を濃縮後メタノールに溶解し、冷蔵庫に放置するとマゼスマライシンBの結晶を得ることができる。

以下に、マゼスマライシン化合物の製造法に関する実施例を示すが、本発明により、マゼスマ

ライシンA、B、Cおよびアンヒドロマゼスマライシンの性状が明らかにされたのでこの性状に基いてマゼスマライシン化合物の製造法を種々考案することができる。

従つて、本発明は実施例に限定されるものではなく実施例の修飾手段は勿論、本発明によつて明らかにされたマゼスマライシン化合物の性状に基いて公知の手段を施してマゼスマライシンA、B、Cおよびアンヒドロマゼスマライシンを生産、濃縮、抽出、精製する方法をすべて包括する。  
実施例1

寒天斜面培地に培養した放線菌ME561-6株(微研菌庫第3825号)をクリセリン1.5g、綿実粉1.5g、L-アスパラギン0.2g、食塩0.3gを含む液体培地に接種し、27℃で48時間振盪培養して1次種培養を得た。次に上記組成の液体培地5mlを500ml容量の坂口フラスコに12.5mlずつ分注したものに1次種培養液1mlずつを接種し、27℃で4日間振盪培養した。pH7.6の培養液4.7mlを得た。伊液は4.6mg/ml

(全量 21.6 mg) の量でマゼスマライシン化合物を含んでいた。沪過で分けられた菌体は 21.3 g で 6.0 mg のマゼスマライシン化合物を含んでいた。上記培養液 740 ml の pH を水酸化ナトリウムで 8.0 に調整し、5.000 ml のブタノールを加えて攪拌抽出し、減圧濃縮し、精製水 1600 ml に溶解した。マゼスマライシン化合物の 89% にあたる 19.1 mg がブタノール抽出により得られ、その水溶液の pH は 4.5 であつた。水酸化ナトリウムで pH を 7 に調製し、アンバーライト XAD-2 (400 ml, 3.2 × 50 cm) のカラムを通過させた。カラムを精製水 3000 ml を通過することにより洗浄し、5.0% アセトン水 2000 ml により、マゼスマライシン化合物を溶出せしめ、減圧下で濃縮乾固し、1.4 g の褐色粉末を得た。1.84 mg のマゼスマライシン化合物 (マゼスマライシン A が主体) を含有したこの褐色粉末を少量のメタノールに溶解し、シリカゲル (ワコーグル C-200) 4 g を加え均一に混合した後、減圧下で乾燥する。これをクロロホルムでシリカゲル

50 g を懸濁してつめたカラム (内径 20 mm) の頂部に撒く。次にクロロホルム-メタノール (50 : 1 容) 250 ml を通過させ、次にクロロホルム-メタノール (20 : 1 容) で展開し、1.5 ml ずつ分画採取する。分画 32 ~ 45 ml マゼスマライシン B が溶出された。この分画を減圧濃縮して、マゼスマライシン B 7.1 mg を含有する黄土色粉末 1.8 mg を得た。収率は 33% であつた。

## 実施例 2

実施例 1 で得られた黄土色粉末 1.8 mg を 60°C で 50 ml のメタノールに溶解した後、冷却し、マゼスマライシン B の針状結晶 4.6 mg を得た。結晶化の収率は 65% であつた。

## 実施例 3

実施例 1 と同様の方法で得た乾燥粉末 1.5 mg をメタノール 1 ml に溶解し、シリカゲル 1 g を加え均一に混合した後、減圧下で乾燥する。これを酢酸エチルでシリカゲル 1.0 g を懸濁してつめたカラム (内径 14 mm) の頂部に撒く。次に酢酸エチル 600 ml で展開し、7.0 ml ずつ分画採取する。

分画 23 ~ 39 ml マゼスマライシン B が溶出された。この分画を減圧濃縮して、6.1 mg のマゼスマライシン B の純粋な乾燥粉末を得た。これを、加温しながら 6 ml のメタノールに溶解した後、冷却し、マゼスマライシン B の結晶 4.0 mg を得た。

## 実施例 4

寒天斜面培地に培養した放線菌 M E - 561-84 株 (微研菌寄譲 3825 号) をグリセリン 2.5 g、牛肉エキス 0.5%、ポリペプトン 0.5%、酵母エキス 1.0%、食塩 0.2%、MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.05%、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.05%、沈降性炭酸カルシウム 0.3% を含む液体培地 5 l を、500 ml 容のワツフル付三角フラスコ 110 ml ずつ分注したものを用いて、27℃、4 日間回転培養した。pH 5.6 の培養沪液 3530 ml および菌体 1160 g を得た。菌体はメタノール 2500 ml を加えて攪拌抽出し、抽出液を減圧濃縮し、水 500 ml に溶解し、培養沪液と合わせた。以下、実施例 1 と同様の方法でブタノール抽出、アンバーライト XAD-2 处理を行ない、2.2 g の粗粉末を得た。この粗粉末を

実施例 1 の 2 倍のスケールでシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行ない、マゼスマライシン B を含む分画を集めて、減圧濃縮し、1.50 mg のマゼスマライシン B の純粋な粉末を得た。これをジメチルホルムアミド 2 ml を加えて溶解し、メタノール 3.5 ml を加えて、冷却し、マゼスマライシン B の針状結晶 6.8 mg を得た。

## 実施例 5

マゼスマライシン B の結晶 1.24 mg をアセトニトリル 100 ml に溶解し、極微量のアンバーライト CG-50 を添加して、1 時間攪拌した。アンバーライト CG-50 をグラスフィルターで沪過して除去し、アセトニトリルを減圧濃縮により除去していくと、針状結晶が析出した。これをアセトニトリルより再結晶し、8.0 mg のアンヒドロマゼスマライシンの結晶性粉末を得た。

なお、マゼスマライシン C の結晶 6.0 mg をアセトニトリル 50 ml に溶解して上記と同様に処理すると、3.8 mg のアンヒドロマゼスマライシンの結晶性粉末を得た。

濃縮して、マゼスマライシンCの結晶性粉末<sup>24</sup>を得た。

#### 4. 図面の簡単な説明

第1図はマゼスマライシンAの $4.4 \mu\text{g}/\text{ml}$ のアセトニトリル溶液中での紫外部吸収スペクトル曲線を示す。第2図はマゼスマライシンAの臭化カリ鉢で測定した赤外部吸収スペクトル曲線を示す。第3図はマゼスマライシンBの $5.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ の1%メタノール溶液および0.1N水酸化ナトリウム含有1%メタノール溶液中での紫外部吸収スペクトル曲線を示す。第4図はマゼスマライシンBの臭化カリ鉢で測定した赤外部吸収スペクトル曲線を示す。第5図は、マゼスマライシンBの重ジメチルスルフォキサイド溶液で測定した核磁気共鳴スペクトル曲線を示す。

第6図はマゼスマライシンCの $5.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ のアセトニトリル溶液中での紫外部吸収スペクトル曲線を示す。

第7図はマゼスマライシンCの臭化カリ鉢で測定した赤外部吸収スペクトル曲線を示す。第8図

#### 実施例6

実施例5で得られたアンヒドロマゼスマライシンの5.0mgを5.0%アセトン水5.0mlで溶解し、減圧下濃縮すると、マゼスマライシンAを得た。

#### 実施例7

実施例6で得られたマゼスマライシンAの5.0mgを1.5mlのメタノールに溶解し、減圧下濃縮してマゼスマライシンBの結晶4.5mgを得た。

#### 実施例8

マゼスマライシンAの5.0mgを1.5mlのエタノールに溶解し、減圧下濃縮してマゼスマライシンBの結晶4.5mgを得た。

#### 実施例9

実施例5で得られたアンヒドロマゼスマライシンの5.0mgを1.5mlのメタノールに溶解し、減圧下濃縮して、マゼスマライシンBの結晶3.2mgを得た。

#### 実施例10

実施例5で得られたアンヒドロマゼスマライシンの2.1mgをエタノール3.0mlに溶解し、減圧下

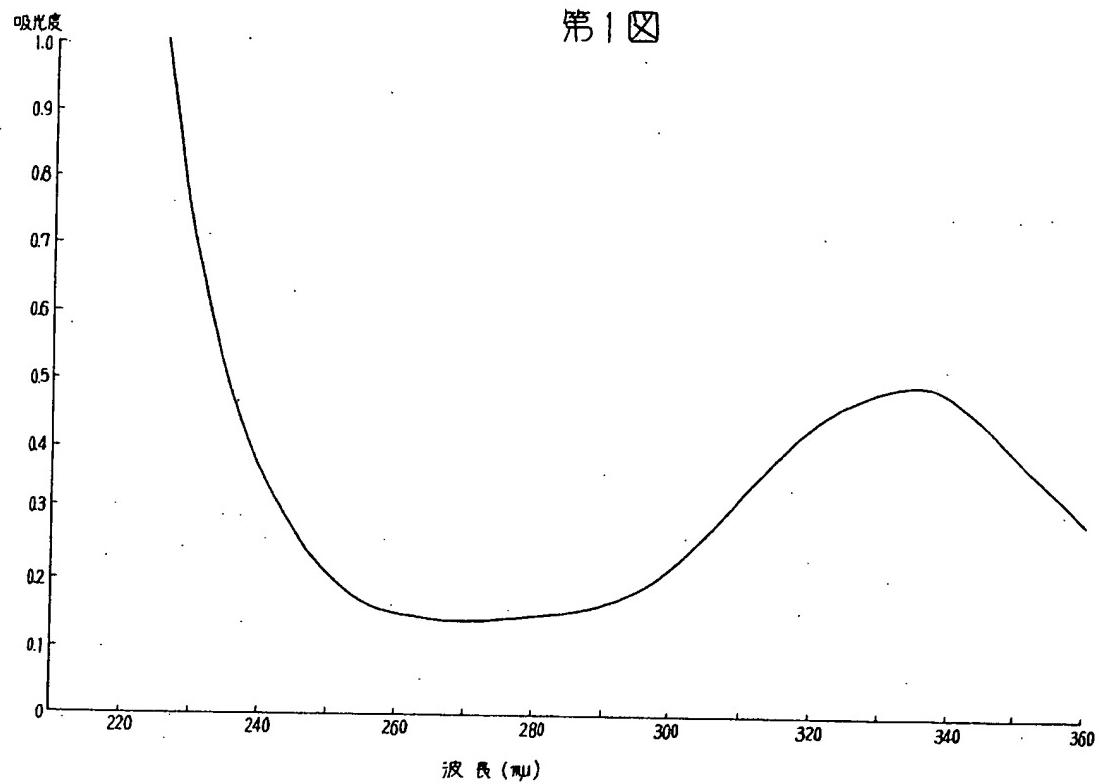
はアンヒドロマゼスマライシンの5.0mg/5.0mlのアセトニトリル溶液中での紫外部吸収スペクトル曲線を示す。第9図はアンヒドロマゼスマライシンの臭化カリ鉢で測定した赤外部吸収スペクトル曲線を示す。

代理人 朝内忠夫 

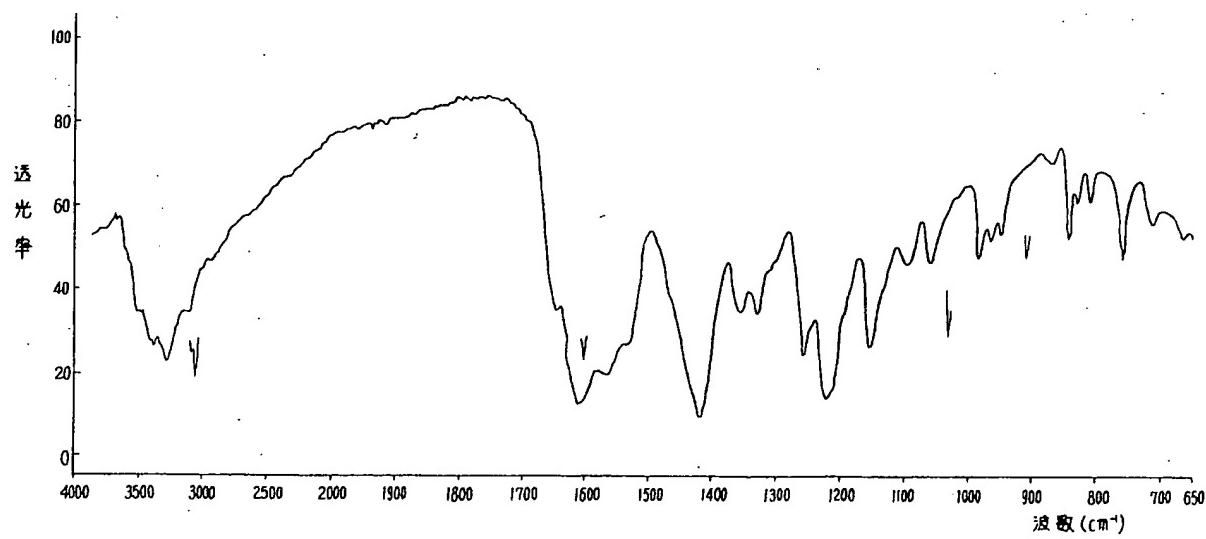
代理人 八木田 茂 

代理人 浜野幸雄 

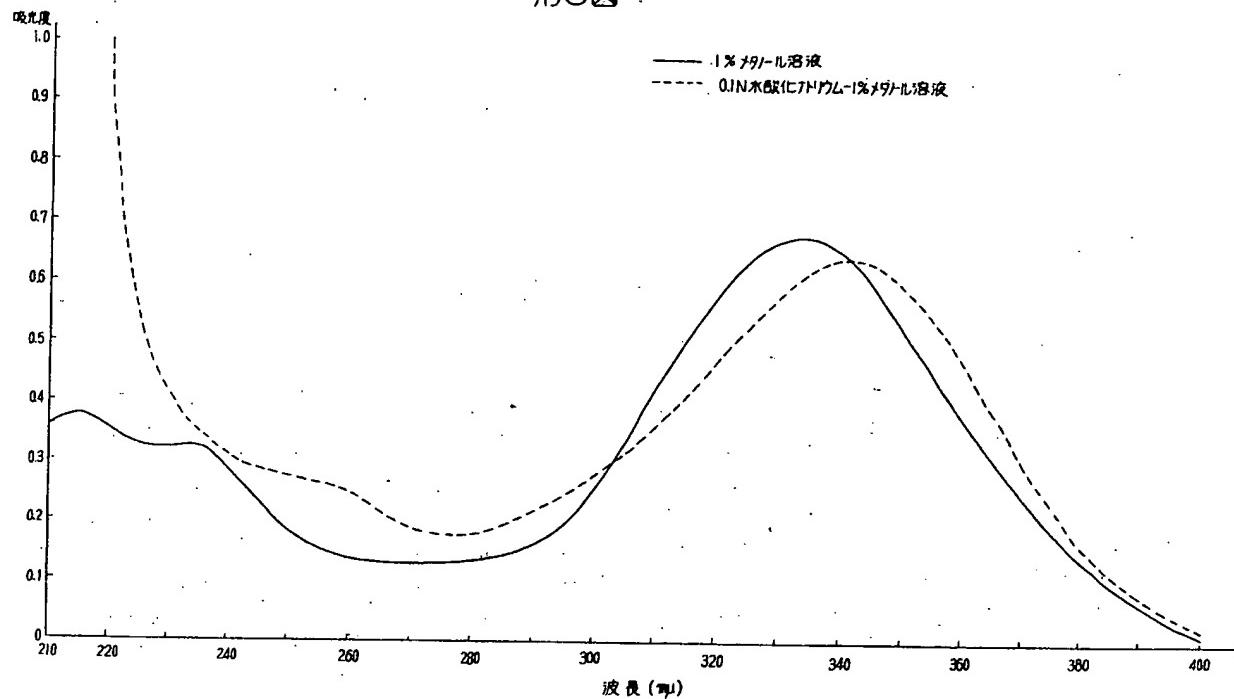
代理人 森田哲 



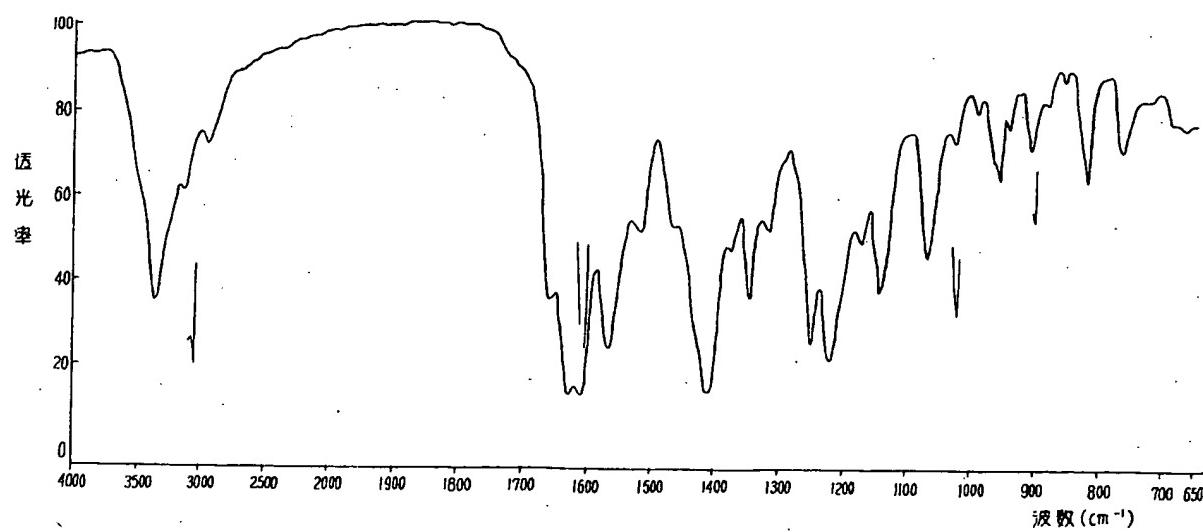
第2図



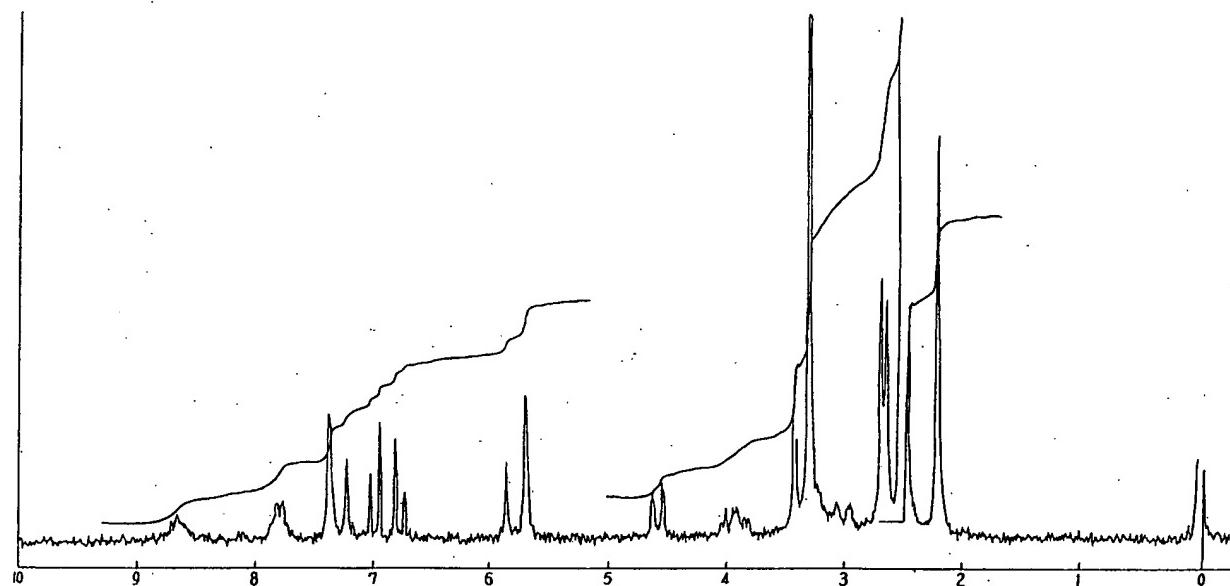
第3図



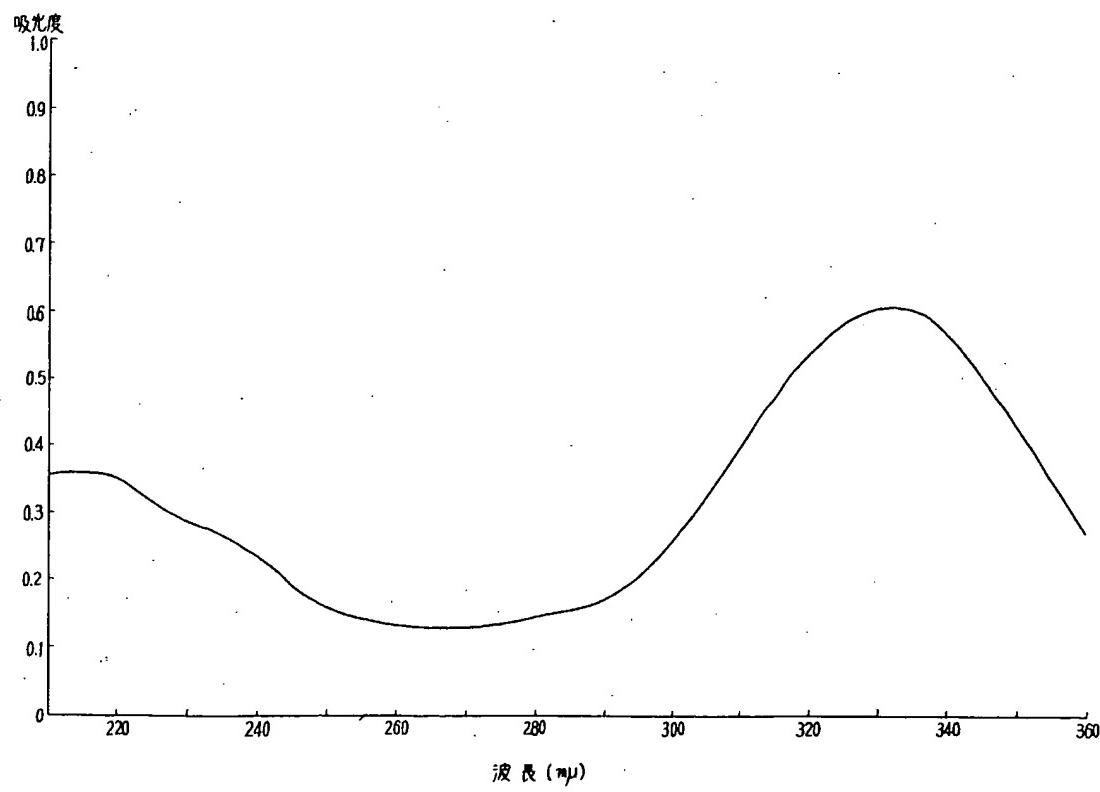
第4図



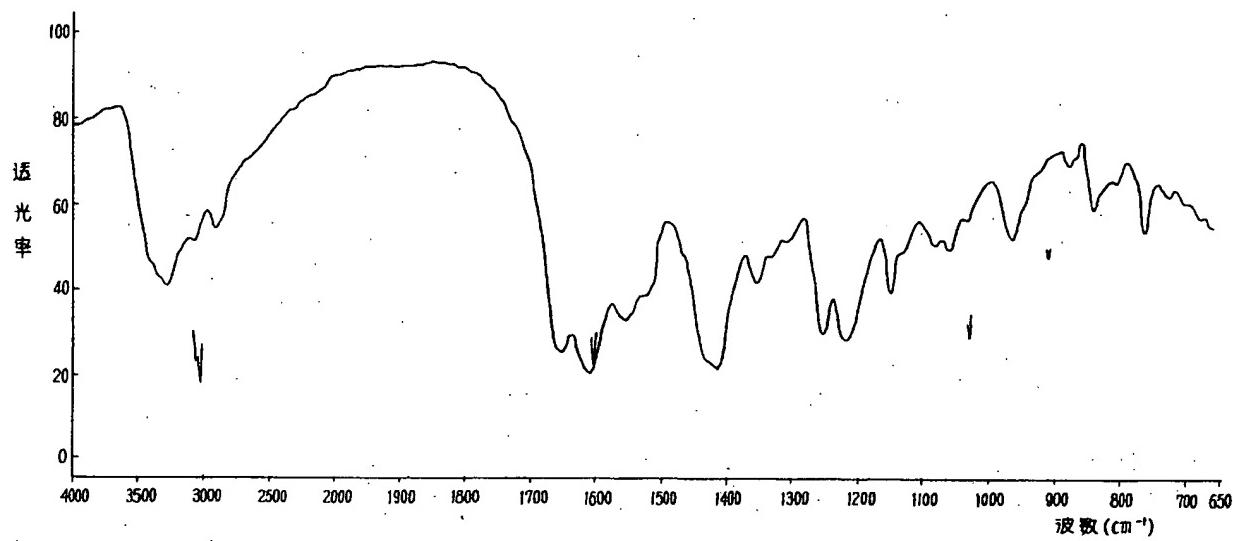
第5図



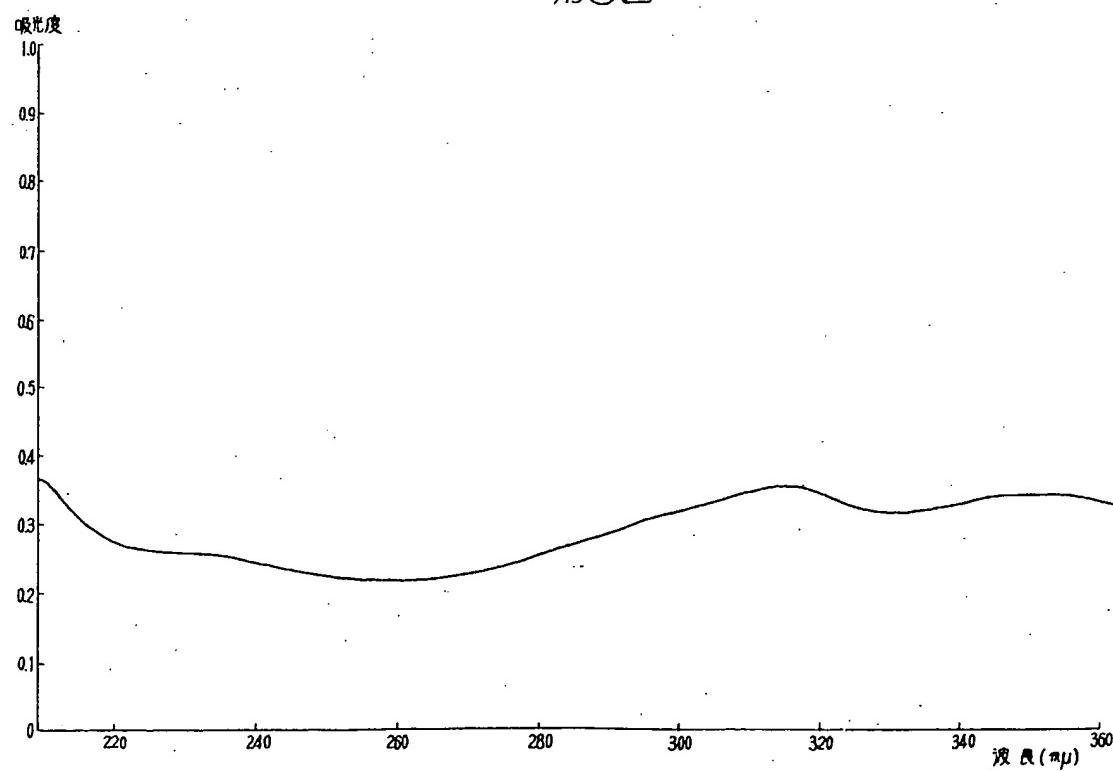
第6図



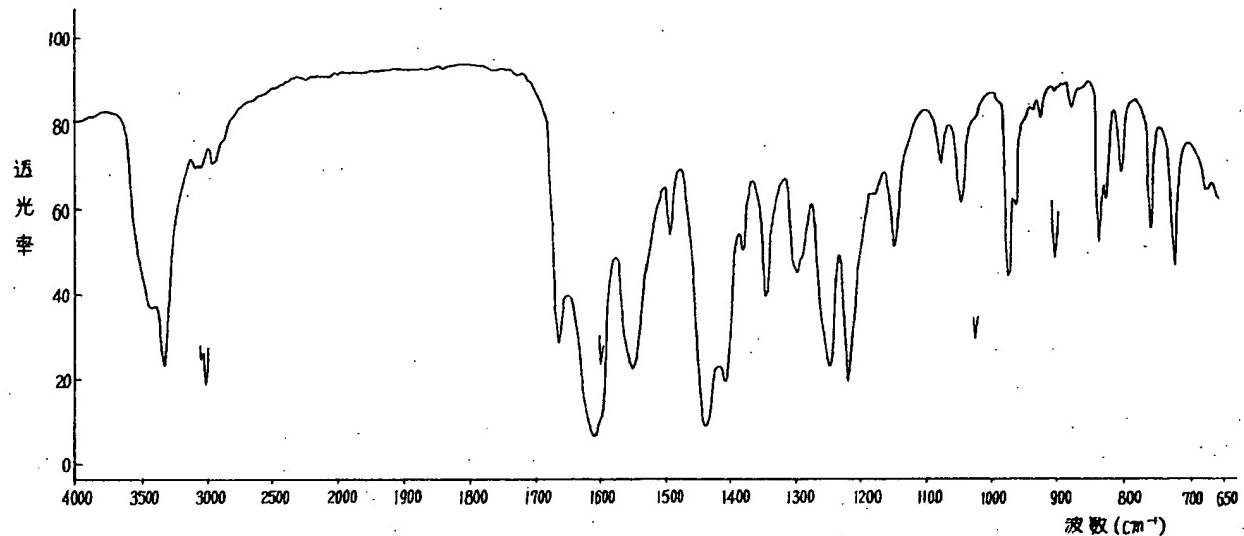
第7図



第8図



## 第9図



## 手続補正書(自発)

昭和52年3月29日

特許庁長官 殿

## 1. 事件の表示

昭和51年特許願 第157479号

## 2. 発明の名称

新制癌抗生物質マゼスマライシン及び  
その製造方法

## 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 東京都品川区上大崎3丁目14番23号

名 称 財團法人微生物化学研究会

## 4. 代 理 人

住所 東京都港区西新橋1丁目1番15号、物産ビル別館

(6145) 氏名

内 忠 夫

## 5. 補正の対象

明細書の特許請求の範囲の欄および発明の詳細な説明の欄

## 6. 補正の内容

- (1) 明細書の特許請求の範囲を別紙の通り補正する。
- (2) 明細書の第7頁下から7行の「アンヒドロアソス」を「アンヒドロマゼス」と補正する。
- (3) 同第9頁5行の「34,600」を「34,600」と補正する。
- (4) 同第9頁6行の「39,400」を「(39,400)」と補正する。
- (5) 同第10頁5行の「12.4%」の次に及び第10頁7~8行の「メタノール」の次に「.」を挿入する。
- (6) 同第10頁7行の「12.2%」を「12.24%」、「18.64%」を「18.66%」と補正する。
- (7) 同第11頁3行の「用」の次に「e」を挿入する。
- (8) 同第11頁下から9行の「ジメチルスルホキ

シサイ」を「ジメチルスルホキサイ」と補正する。

(9) 同第13頁6行の「0.067」の次に「」を挿入する。

(10) 同第13頁8行の「25.700」を「25.700」と補正する。

(11) 同第13頁9行の「19.300」を「19.300」と補正する。

(12) 同第13頁下から3行の「観察」の前に「が」を挿入する。

(13) 同第14頁10行の「550」を「5.50」と補正する。

(14) 同第14頁下から8行の「311.115」を「311.115」と補正する。

(15) 同第14頁下から4行の「815」を「8.15」と補正する。

(16) 同第15頁6行の「アルカノール」を「アルコール」と補正する。

(17) 同第15頁下から2行の「各々の」の次に「供試菌に対する」を挿入する。

(18) 同第16頁の第1表を次の通り補正する。

表

供 試 液	最低阻止濃度 (mg/ml)
スタビロコッカス・アウレウス 209 P	3. / 2
スタビロコッカス・アラクス・スマス	1. 5 4
ミクロコッカス・フラベス PDA/6	3. / 2
ミクロコッカス・リゾティクタクス IFO 3333	3. / 2
サルチナ・ルテア PCI 100/1	3. / 2
バチルス・アンストラシス	6. 2 5
バチルス・ズブチリス NRRL B-5556	3. / 2
バチルス・ズブチリス PCI 2/9	1. 5 4
バチルス・セレウス ATCC 10702	6. 2 5
コリオバクテリウム・ガビス 15/0	3. / 2
エシリヒア・コリ NIH J	6. 2 5
エシリヒア・コリ K-1/2	5 0
シゲラ・ジセンテリエ JB 11910	3. / 2
シゲラ・フレキシネリ 4D JB 11811	5 0
シゲラ・シンネイ JB 11746	1 0 0
サルモネラ・チフイ T-63	5 0
サルモネラ・エンテリテイチジリス 1891	6. 2 5
プロテウス・ブルガリス OX/9	2 5
プロテウス・レトグリ QN 466	5 0
シュードモナス・エルギノーザ A-3	> 5 0
クレブシラ・ニユーモニエ PCI 602	3. / 2
カンジダ・シユードロビカリス NI 7494	6. 2 5
カンジダ・アルビカンス 3/47	> 2 5
カンジダ・クルセイ NI-7492	> 5 0
サツカロミセス・セレビシエ	> 2 5
クリプトコッカス・ネオホルマンス NI-7496	> 2 5
ヘルミンソスカリウム・オリゼ	> 2 3
ビリクラリア・オリゼ	6. 2 5
キサントモナス・シリ	> 2 5
キサントモナス・オリゼ	1. 5 6
アスペルギルス・ニガ	> 5 0
トリコフィートン・アステロイデス 429	1. 2 5

例 同第ノク頁下から第×行の式を次の通り補正する。

$$\text{生存率} (\%) = \frac{(\text{処理マイスの生存日数})}{(\text{未処理マイスの生存日数})}$$

例 同第ノク頁下から×行の「ノクモ」を「ノクモ」と補正する。

例 同第ノク頁下から×行の「parchment」を「Parchment」と補正する。

例 同第ノク頁下から×行の「ISP」を「ISP」と補正する。

例 同第ノク頁下から×行の「Yellow Maple」を「Yellow Mapze」と補正する。

例 同第ノク頁末行の「～4p1」を「～4 p1」と補正する。

例 同第ノク頁ノ行の「ノba」および「ノba」をそれぞれ「ノba」および「ノba」と補正する。

例 同第ノク頁下からノ行の「p1」および「n1」をそれぞれ「p1」および「n1」と補正する。

例 同第ノク頁下から×行の「jpi」を「j pi」と補正する。

例 同第ノク頁下から×行の「Yellow Tint～2ba」を「Yellow Tint～2 ba」と補正する。

例 同第ノク頁下から×行の「Yellow」を「Yellow」と補正する。

例 同第ノク頁×行の「parchment」を「Parchment」と補正する。

例 同第ノク頁×行の「2cb」を「2 cb」と補正する。

例 同第ノク頁下から×行の「jng, Yellow」を「j ng, Yellow」と補正する。

例 同第ノク頁下から×行の「2cb」を「2 cb」と補正する。

例 同第ノク頁ノ行の「pearly」を「Pearl」と補正する。

例 同第ノク頁下から×行の「(4)」を「(3)」と補正する。

例 同第ノク頁下から×行の「それがその信用は」を「れるが、その作用は」と補正する。

例 同第ノク頁×行の「ISP」を「ISP」と補正する。

例 同第ノク頁ノ行の「思は」を「思わ」と補正する。

例 同第ノク頁下から×行の「Isp」を「ISP」と補正する。

例 同第ノク頁×行の「要求」を「要約」と補正し、また「561…24」を「561-24」とそれぞれ補正する。

例 同第ノク頁ノ行の「分解」を「分解力」と補正する。

例 同第ノク頁下から×行の「Systemetic」を「Systematic」と補正する。

例 同第ノク頁下から×行の「THE Japomese」を「The Japanese」と補正する。

例 同第ノク頁の第3表を次表の通り補正する。

別 3 種	M.R.S. / - L44 ストレプトミセス・チオ ルテウス ISP 5027	文 紙 記
輪生枝の形成	+	- (1) 平滑 黄味灰
螺旋形成	-	- (1) 平滑 黄味灰
孢子の表面	-	種々の培地地上で気泡無 の形状なく不明
溶解性色素	-	うす黄～中黄茶～黄茶 ～～黃色灰～茶色灰
メラニン鉄色素の生成	(ISP-1) 培地 ISP-6 ISP-7	クリーム～黃茶色(1) 黄茶 (1)
芽胞の色	-	- (3)
溶解性色素	-	- (3)
メラニン鉄色素の生成	-	- (3)
スメーテーの加水分解	干	- (1)
牛乳の凝固	僅めて弱い + 弱い + 強い	+ はやい (1) + はやい (1) + 強い
・ のペプトン化	-	-
セラチンの変化	+ 中等度	+ おぞい (1)
单糖ゼラチン グルコースペプトンゼラチン	-	- (1)
硝酸塩の還元反応	-	- (3)
炭素源の利用性	-	-
ユニアブノース	-	-
コーキシロース	-	-
コーグルコース	-	-
コーフラクトース	-	-
ショウガロース	-	-
イノシトール	-	-
エーテルムノース	-	-
ラブノース	-	-
マンニトール	-	-
生産する抗生物質	オーレオスライシン	オーレオスライシン(1)

注(1)：土はおぞらく+、干はおぞらく-を意味する。

注(2)：文献記載は(1) S.A. Wakeman 等の The Actinomycetes, 3巻, 279 頁,  
1961; (2) Electromicrograms of Actinomycetes by A. J. G. The Society for Actinomycetes, Japan, 1965;  
(3) International Journal of Systematic Bacteriology, 24 卷,  
362 頁, 1972.

66 同第 28 頁 8 行の「ス・ペプトン」を「ス、  
ペプトン」と補正する。

67 同第 28 頁 11 行の「streptomyces」を  
「Streptomyces」と補正する。

68 同第 29 頁 2 行の「不菌種」を「本菌種」と  
補正する。

69 同第 29 頁下から 7 行の「表！」を「表々」  
と補正する。

70 同第 29 頁下から 6 行の「NaCl」を「NaCl」  
と補正する。

71 同第 29 頁下から 5 行の「CaCO<sub>3</sub> 0.32 %」を  
「CaCO<sub>3</sub> 0.32 %」と補正する。

72 同第 30 頁第 4 表中の下から 5 行の「グルコ  
ース 1 %」の下のアンダーラインを削除する。

73 同第 31 頁下から 8 行の「CaCO<sub>3</sub> 0.32 %」を  
「CaCO<sub>3</sub> 0.32 %」と補正する。

74 同第 33 頁下から 6 行の「PH」を「pH」と  
補正する。

75 同第 34 頁下から 2 行および末行の「PH」を  
「pH」とそれぞれ補正する。

76 同第 35 頁 7 行の「米国ロームアンド・ハー  
ス社製」を「(米国ローム・アンド・ハース社製)」  
と補正する。

77 同第 36 頁 10 行の「オーレオスリシン」を  
「オーレオスライシン」と補正する。

78 同第 37 頁下から 3 行の「脱水」の次に「又  
は脱アルコール」を挿入する。

79 同第 37 頁下から 2 行及び第 38 頁 2 行の  
「PH」を「pH」と補正する。

80 同第 38 頁 6 行の「される」を「させる」と  
補正する。

81 同第 39 頁下から 2 行の「PH」を「pH」と補  
正する。

82 同第 40 頁 6 行, 9 行及び 10 行の「PH」を  
「pH」とそれぞれ補正する。

83 同第 40 頁 6 行の「1600 ml」を「1,600 ml」  
と補正する。

84 同第 41 頁 7 行および 10 行の「黄土色 粉」  
を「黄土色粉」と補正する。

85 同第 42 頁 7 行の「ME-」を「ME」と補正す

る。

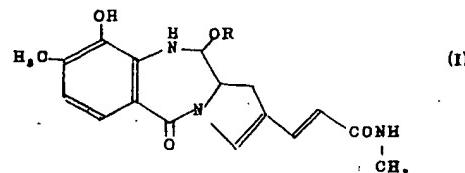
例) 同第42頁下から4行の「PH」を「pH」と補正する。

例) 同第42頁下から4行および5行の「3530」、「1160」、「2500」をそれぞれ「3,530」、「1,160」、「2,500」と補正する。

例) 同第45頁下から4行の「スルフオキサイド」を「スルホキサイド」と補正する。

## 2 特許請求の範囲

### 1 次の一 般式(I)



[式中Rは水素原子または低級アルキル基、特にメチル基またはエチル基を示す]で表わされる化合物またはこれのアンヒドロ体である制癌抗生物質マゼスマライシン化合物。

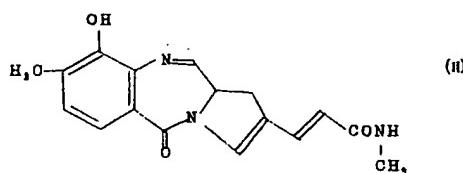
2 一般式(I)の化合物においてRが水素原子で表わされるマゼスマライシンAである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

3 一般式(I)の化合物においてRがメチル基で表わされるマゼスマライシンBである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

4 一般式(I)の化合物においてRがエチル基で表わされるマゼスマライシンCである特許請求の

## 範囲第1項記載の化合物。

5 一般式(I)の化合物のアンヒドロ体であつて次式(II)



で表わされるアンヒドロマゼスマライシンである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

6 ストレブトミセス属に属するマゼスマライシン化合物生産菌を、栄養源を含有する培地中で好気的に培養して、その培養物中にマゼスマライシン化合物を生産せしめ、培養物からマゼスマライシン化合物を採取することを特徴とする、抗生物質マゼスマライシン化合物の製造法。

7 ストレブトミセス・チオルテウスM561-1-LK株(微研菌寄第3825号)を栄養源培地中で25~35°Cの温度範囲で好気的に培養し

て、その培養物中にマゼスマライシン化合物を生産せしめる特許請求の範囲第6項記載の方法。

8 マゼスマライシン化合物生産菌の培養物から水非混和性の有機溶剤で抽出によつてマゼスマライシン化合物を採取する特許請求の範囲第6項記載の方法。

9 マゼスマライシン化合物生産菌の培養液から吸着剤、特に活性炭または多孔質樹脂に吸着せしめてマゼスマライシン化合物を採取する特許請求の範囲第6項記載の方法。

10 マゼスマライシン化合物を含有する粉末を採取し、この粉末をメタノール又はメタノールを含有する混合溶媒で抽出してマゼスマライシンBを採取する特許請求の範囲第6項記載の方法。

11 マゼスマライシンBを採取し、非極性溶媒中で脱メタノールして、アンヒドロマゼスマライシンを採取する特許請求の範囲第6項又は第7項記載の方法。

12 アンヒドロマゼスマライシンを採取し、含水溶媒に溶解して、マゼスマライシンAを採取す

る特許請求の範囲第 6 項記載の方法。

(12) アンヒドロマゼスマライシンを採取し、エタノールを含有する溶液に溶解して、マゼスマライシン D を採取する特許請求の範囲第 6 項記載の方法。

(14) マゼスマライシン A またはアンヒドロマゼスマライシンをメタノールまたはエタノールと反応させることから成るマゼスマライシン B または C の製造法。

## 手続補正書(自発)

昭和 52 年 5 月 26 日

特許庁長官 殿

### 1. 事件の表示

昭和 51 年 特許願 第 157479 号

### 2. 発明の名称

新制癌抗生物質マゼスマライシン及びその製造方法

### 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人  
住所 東京都品川区上大崎 3 丁目 14 番 23 号

名称 財團法人微生物化学研究会

### 4. 代理人

住所 東京都港区西新橋 1 丁目 1 番 15 号、物産ビル別館

(6145) 氏名 朝 内 忠 夫 

### △補正の対象

明細書の発明の詳細な説明の欄

### △補正の内容

- (1) 明細書第 1 頁 9 行の「43,600」を「43,600」と補正する。
- (2) 同第 1 頁下から 8 行の「311,124」を「311,126」と補正する。
- (3) 昭和 51 年 3 月 28 日差出の手続補正書第 4 頁下から 16 行の「エンテリティチジリス」を「エンテリティディイス」と補正する。
- (4) 同手続補正書第 4 頁下から 9 行の「NI-7492」を「NI-7493」と補正する。
- (5) 同手続補正書第 4 頁下から 7 行の「NI-7496」を「NI-7497」と補正する。
- (6) 同手続補正書第 8 頁の第 3 表中 6 ~ 7 行の「種々の培地上で気菌糸の形成なく不明」を削除し同表 3 ~ 6 行にわたつて第 3 欄中に次の記載を挿入する。

「  
種々の培地上で  
気菌糸の  
形成なく  
不明」

- (7) 同手続補正書第 8 頁第 3 表中の第 4 欄 6 行の「~黄茶色(1)」を「~黄茶(1)」と補正する。
- (8) 同手続補正書第 9 頁 1 ~ 2 行の記載を削除し代りに「同第 38 頁 8 行の「ス・ペブトン」を「ス・ペブトン」と補正する。」を挿入する。
- (9) 同手続補正書第 9 頁 7 行の「表々」を削除し「第 6 表」を挿入する。

## 手続補正書(自発)

昭和52年7月28日

特許庁長官 殿

## 5. 補正の対象

明細書の発明の詳細を説明の欄

## 6. 補正の内容

- (1) 明細書第12頁2行の「2.05」を「2.66」と補正する。

## 1. 事件の表示

昭和51年特許願 第157479号

## 2. 発明の名称

新制癌抗生物質マゼスママイシン及びその製造方法

## 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 東京都品川区上大崎3丁目14番23号

名称 財団法人微生物化学研究会

## 4. 代理人

住所 北京市崇文区崇外大街11号11层13号 物貿ビル別館  
東京都港区西新橋1丁目2番9号、三井物産館内

(6145) 氏名

忠夫



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**